



EXPERIENCIAS DE CAMPO CON UNA VACUNA SUBUNITARIA DE *ACTINOBACILLUS PLEUROPNEUMONIAE* PARA EL CONTROL DE LA PLEUROPNEUMONIA CONTAGIOSA PORCINA

Rosales O. C (1)

(1) INTERVET. MEXICO. S.A. de C.V

INTRODUCCION

La pleuropneumonia contagiosa porcina producida por *Actinobacillus pleuropneumoniae* (App) es una enfermedad que esta ampliamente distribuida a nivel mundial y actualmente en Mexico esta considerada como una de las principales enfermedades respiratorias que ocasiona cuantiosas perdidas a la porcicultura nacional.

Para prevenir o controlar esta enfermedad se deben considerar diversos aspectos del medio ambiente, de manejo y de sanidad asi como procurar que los animales susceptibles presenten una barrera inmunitaria capaz de transferir proteccion ante la exposicion a los diferentes serotipos de App. A este respecto, se reconocen 12 serotipos de App los cuales producen 3 diferentes toxinas (ApxI, ApxII y ApxIII) que tienen factores de virulencia conocidos. Los cerdos que tienen titulos de anticuerpos altos contra estas toxinas (> 40 HLN y > 160 CTN) resistieron el desafio con el serotipo 9 de App comparado con los animales cuyos titulos eran bajos (< 10 HLN y < 40 CTN) y que despues del desafio desarrollaron la enfermedad y murieron (Crujisen, T. 1994). Por otro lado se ha reportado que los anticuerpos contra las toxinas Apx de App son inducidos principalmente despues de la infeccion y probablemente juegan un papel importante en la proteccion contra la enfermedad (Cray, F. 1990).

Para inmunizar a los animales se han elaborado bacterinas inactivadas conteniendo diferentes serotipos de App, sin embargo los resultados obtenidos son variables, debido probablemente a que estos biológicos contienen antígenos capsulares por lo que solamente dan proteccion limitada a los serotipos que contiene el producto, ademas de no inducir respuesta inmune contra las toxinas Apx.

Recientemente se desarrollo una vacuna subunitaria que contiene los antígenos purificados ApxI, ApxII, ApxIII y OMP (Proteina de la Membrana Externa) la cual ha demostrado su efectividad contra los diferentes serotipos de App. En este trabajo se describen las experiencias de campo obtenidas con esta vacuna en 2 granjas del centro del pais donde existian evidencias de la enfermedad respiratoria causada por App.

MATERIAL Y METODO

La prueba se realizo en dos granjas porcinas localizadas en La Piedad, Mich. (granja 1) y Lagos de Moreno, Jal. (granja 2). Se utilizaron cerdos clinicamente sanos. Se aplico una vacuna subunitaria contra App que contiene 3 toxoides inactivados (ApxI, Apx II y Apx III) ademas de una Proteina de la Membrana Externa (OMP). Los componentes de la vacuna estan incorporados a un adyuvante a base del acetato de alfa-tocoferol. En cada granja se vacunaron 100 lechones de 6 semanas de edad y se dejaron 30 animales sin vacunar como grupo control. La revacunacion se realizo a las 10 semanas de edad. En ambos casos la dosis fue de 2 ml y la via de aplicacion la intramuscular profunda atras de la oreja. Al momento de iniciar este estudio, se hizo un muestreo de las dos granjas para realizar un seroperfil que permitiera conocer la situacion zoonositaria de los animales bajo estudio.

Se registro la temperatura rectal a las 0, 4, 24 y 48 horas despues de la vacunacion en 30 de los animales vacunados y en el grupo control. Tambien se observaron los animales a las 0, 24 y 48 horas despues de la vacunacion para determinar si habia alguna reaccion local. Asi mismo, se registraron los datos sobre signos clinicos, morbilidad y mortalidad durante la conduccion de la prueba. Ademas se registro el peso corporal de los animales hasta el dia del embarque y el numero de tratamientos contra problemas respiratorios durante toda la engorda. Con el objeto de conocer la respuesta inmune de los animales, se colectaron muestras sanguineas a las 6, 14, 16 y 24 semanas de edad en la granja 1 y a las 6, 10, 12 y 24 semanas de edad en la granja 2; estos sueros se probaron mediante la tecnica de Elisa (Antigenos ApxI, ApxII, ApxIII y OMP). Finalmente los animales fueron seguidos hasta el rastro para observar el grado de lesion pulmonar existente. Las lesiones se clasificaron ordinalmente como ligeras (grado 1), moderadas (grado 2) y severas (grado 3). A los pulmones sin lesion les correspondio el grado 0.

RESULTADOS

Los resultados del seroperfil correspondientes a la granja 1 demostraron la presencia del virus de la enfermedad de Aujeszky, y del paramixovirus del sindrome del ojo azul, asi como la colonizacion del pie de cria y de cerdos de 15 a 18 semanas de edad con App, serotipos 1 y 3. Por lo que respecta al seroperfil de la granja 2, se detectaron animales positivos al virus de la enfermedad de Aujeszky y la colonizacion del pie de cria y animales de 4 y 12 semanas de edad con App serotipos 1 y 3.

En relacion a la temperatura corporal, se observo que en las dos granjas los animales tuvieron en promedio un incremento de 1°C a las 4 hrs. posvacunacion y revacunacion, y que a las 24 hrs. esta se normalizo.

Por lo que toca a la reaccion local se observo que 5 y 6 animales de la granja 1 y 2 respectivamente presentaron una pequeña induracion en el sitio de la inyeccion la cual desaparecio a las 48 hrs. de la vacunacion.

Los signos clinicos observados despues de la vacunacion y revacunacion en ambas granjas consistieron principalmente en anorexia, apatia y postracion (80-100%) los cuales desaparecieron entre las 4 y 8 horas de la vacunacion. En menor grado tambien se observo salivacion y vomito (10-20%), temblor (1-3%) y un animal tuvo un shock, el cual se recupero sin requerir tratamiento con algun antihistaminico.

En lo que refiere a la morbilidad, esta se estimó en forma indirecta segun el radio de tratamientos requeridos por animal en cada grupo. Al respecto se observo que en la granja 1 el grupo control requirio 4.7 contra 3.9 del grupo vacunado, mientras que en

la granja 2 el radio fue de 0.8 por 1.6 para el grupo control y vacunado respectivamente.

La mortalidad observada en la granja 1 fue del 36% para el grupo control y 18% para el vacunado. En la granja 2 unicamente se presentaron 2 bajas (2.2%) en el grupo vacunado.

La ganancia de peso durante la engorda para los animales de la granja 1 fue similar en ambos grupos (78 kgs) mientras que en la granja 2 los del grupo control tuvieron una ganancia de 60 kgs y los vacunados 65 kgs. En lo que respecta a la conversión alimenticia, esta unicamente se pudo estimar en la granja 2 encontrandose que para el grupo control fue de 2.7 kgs de alimento/kg peso ganado, mientras que para el grupo vacunado la relación fue de 2.5 kg de alimento/kg de peso ganado.

Los resultados serológicos obtenidos mediante la prueba de ELISA mostraron que en la granja 1, los animales del grupo control presentaban anticuerpos contra los 4 antígenos vacunales al momento de la vacunación, los cuales decrecieron en el tiempo hasta el día de la revacunación (14 semanas de edad) para posteriormente incrementarse hasta la semana 24 con excepción de los correspondientes al antígeno ApxIII (gráfica 1). En lo que respecta al grupo vacunado, se observó también que los animales presentaban títulos de anticuerpos al momento de la vacunación, los cuales similarmente al grupo control decrecieron hasta el día de la revacunación (semana 14) pero para la semana 16 mostraron un incremento significativo para luego decrecer paulatinamente hasta la semana 24, terminando finalmente con un título ligeramente mayor para cada antígeno que los del grupo control (gráfica 2).

Por lo que le toca a la granja 2 se pudo observar que los animales del grupo control al inicio del estudio también presentaban títulos de anticuerpos contra los 4 antígenos contenidos en la vacuna, los cuales hasta las 12 semanas tuvieron una tendencia decreciente menor a 2.2 (gráfica 3). Los resultados correspondientes al muestreo de las 24 semanas, serán discutidos en la presentación del trabajo. Por lo que corresponde al grupo vacunado, se observó que a las 6 semanas de edad los animales mostraron anticuerpos contra los antígenos vacunales, los cuales decrecieron a las 10 semanas (momento de la revacunación) para posteriormente tener un incremento notorio a las 12 semanas de edad (gráfica 4). Los resultados correspondientes al muestreo de las 24 semanas, serán discutidos en la presentación del trabajo.

Título expresado en Log base 10 $z \sim 4$

En cuanto a las lesiones observadas en el rastro, se encontró que para la granja 1, el grupo control tuvo 37% de pulmones sin lesión, ninguno en el grado 1, 12% para el grado 2 y 50% del grado 3. El grupo vacunado presentó el 44% de pulmones sin lesión, 22% del grado 1, 28% para el grado 2 y 6% para el grado 3.

En lo que respecta a la granja 2 se observó que entre ambos grupos no hubo prácticamente diferencia y resaltó el hecho de que la mitad de los animales inspeccionados no mostraron lesión pulmonar y el 43 y 42% del grupo control y vacunado respectivamente tuvieron una lesión del grado 1. Pocos animales mostraron lesión del grado 2 (7 y 8% de los controles y vacunados respectivamente) y ninguno tuvo lesión severa grado 3

DISCUSION

Los seroperfiles demostraron en ambas granjas la presencia de patógenos como el virus de la enfermedad de Aujeszky, que está considerado como un agente inmunosupresor que predispone al animal a sufrir la infección con App.

El incremento de la temperatura de 1°C promedio durante las primeras 4 horas posvacunación es resultado del estímulo antigénico y explica los signos clínicos observados de anorexia, apatía y postración. En otras experiencias se ha observado que si los animales se dietan durante 12 horas antes de la vacunación, estos signos se reducen. En relación al animal que presenta shock y se recupera se puede asumir como una respuesta de tipo individual, lo cual es un riesgo que ocurre cuando se aplica un inmunógeno.

El hecho de que prácticamente no hayan ocurrido reacciones locales después de la vacunación, corrobora los resultados obtenidos en otras pruebas en las que se probaron las ventajas del adyuvante a base del acetato di- α -tocoferol.

Los datos obtenidos sobre la morbilidad (medicación) pudieran tener influencia de otros gérmenes como *Mycoplasma*, que también ocasiona signos respiratorios en los animales y por lo tanto justifican su medicación. Cabe señalar que a la observación de las lesiones pulmonares, en algunos de ellos se detectaron lesiones sugestivas a las producidas por *Mycoplasma hyopneumoniae*.

Aunque la mortalidad en la granja 1 fue significativamente mayor en el grupo control que en el vacunado (36 contra 18%), en la granja 2 esta diferencia no se observó debido probablemente a que esta última tenía mejores condiciones sanitarias y únicamente se presentaron 2 bajas en el grupo vacunado, a los que no se les practicó el diagnóstico bacteriológico confirmatorio. Los resultados referentes a la ganancia de peso en la granja 1, no mostraron diferencias entre el grupo control y el vacunado a lo cual cabe mencionar que este tipo de variable cuando es medida bajo condiciones naturales, puede estar influenciada por diversos factores de confusión difíciles de controlar, sin embargo, en la granja 2 donde se pudo además medir la conversión alimenticia, los datos favorecen ligeramente al grupo vacunado.

Las pruebas serológicas de ELISA (gráficas 1 y 2) mostraron que en la granja 1, los cerdos de los dos grupos tenían anticuerpos contra los 4 antígenos vacunales desde el inicio del estudio (6 semanas), los cuales pudieran ser de origen materno; en el grupo control, estos anticuerpos decrecieron hasta las 14 semanas, etapa en la que iniciaron su incremento hasta las 24 semanas de edad, sin embargo los títulos promedio a las 16 semanas fueron sensiblemente inferiores a los detectados en el grupo vacunado. Esto último es importante ya que se ha observado que la colonización de los cerdos con App ocurre generalmente entre las 12

y 16 semanas de edad, lapso que coincide con el movimiento de los animales a la engorda. El incremento paulatino del título de anticuerpos a partir de las 14-16 semanas de edad, pudo deberse a que los cerdos se colonizaron con App y desarrollaron estos anticuerpos, lo cual corrobora lo discutido en el párrafo anterior.

Al comparar la respuesta inmune del grupo vacunado se observó que precisamente a las 14 semanas, fecha de la revacunación, los animales tuvieron una respuesta secundaria e incrementaron notoriamente los anticuerpos los cuales alcanzaron el título mayor a las 16 semanas para posteriormente decrecer hasta las 24 semanas de edad, lo cual significa que los animales mantienen títulos altos durante la etapa crítica en que ocurre la colonización (gráfica 2). Respecto a la granja 2, se observó una situación similar a lo discutido anteriormente, quedando pendiente determinar el título final a las 24 semanas de edad (gráficas 3 y 4). En relación a las lesiones pulmonares en la granja 1, se observó que aunque un alto porcentaje de cerdos de ambos grupos no presentaron lesiones, el 50% de las lesiones severas (grado 3) ocurrieron en los animales no vacunados. En la granja 2 no se encontraron diferencias debido a que las lesiones observadas eran más características de las producidas por *Mycoplasma hyopneumoniae*.

CONCLUSIONES

Las experiencias de campo mostraron que después de la vacunación se presentó un ligero incremento de la temperatura con la manifestación de algunas reacciones clínicas y ningún tipo de reacción local en el sitio de inyección. La medicación y mortalidad se redujo y la ganancia de peso fue mejor en los animales vacunados. La serología demostró la presencia de títulos altos de anticuerpos durante la etapa crítica en que generalmente ocurre la colonización de los animales, los cuales presentaron menor grado de lesión pulmonar. Esta vacuna subunitaria abre una nueva alternativa en el control y prevención de la pleuropneumonia contagiosa porcina.

REFERENCIAS

CIPRIAN, C.A., et al.: La Enfermedad en México. *Actinobacillus pleuropneumoniae*. Memorias del primer simposium Internacional de Haemophilus (*Actinobacillus*) pleuropneumoniae. Guadalajara, Jal. Mex. p.29,1990

CRUIJSEN, T. et al.: Pigs with hemolysin and cytotoxin neutralizing antibodies are protected against *Actinobacillus pleuropneumoniae*. Proceedings del 13 IPVS. Bangkok, Thailand, p.128,1994.

FEDORKA-CRAY, P.J., et al.: Citado por: Utrera, V. Agar hemolysis inhibition assay for detection of antibodies to *Actinobacillus pleuropneumoniae* in pig serum. Proceedings del 12 IPVS. The Hague, Netherlands, p.218,1992.

KOBISCH, M., et al.: Efficacy of an *Actinobacillus pleuropneumoniae* subunit vaccine. Proceedings del 12 IPVS, The Hague, Netherlands, p.216,1992.

VAN DEN BOSCH, J.F. et al.: Heterologous protection induced by an *A. pleuropneumoniae* subunit vaccine. Proceedings del 11 IPVS. Lausanne, Switzerland p. 11, 1990.

VAN DEN BOSCH, J.F. et al.: Protection induced by a trivalent *A. pleuropneumoniae* subunit vaccine. Proceedings del 12 IPVS. The Hague, Netherlands, p.194,1992.